

Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa
Centro de Biologia Aplicada à Agricultura

Relatório de estágio de Iniciação à Investigação Científica

Ontogenia dos tricomas em cotilédones e plântulas de *Lavandula pedunculata* (alfazema)

Rita Eduardo Jorge

Orientadora: Doutora Ana Caperta

Co-orientadora: Doutora Generosa Teixeira

Lisboa, 2012

Índice

Sumário	2
1. Introdução	3
2. Materiais e métodos	5
2.1 Material vegetal.....	5
2.2 Métodos.....	5
2.2.1 Germinação das sementes	5
2.2.2 Condições de crescimento das plantas	5
2.2.3 Microscopia Electrónica de Varrimento (MEV)	5
2.2.4 Análise de imagens	6
3. Resultados	7
3.1 Germinação	7
3.2 Tipos de tricomas presentes nos cotilédones	7
3.3. Desenvolvimento das plantas	8
3.3.1. Controlo: Fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro.....	8
3.3.2 Fotoperíodo 12 horas de luz e 12 horas de escuro	11
4. Discussão	12
5. Bibliografia	14

Sumário

O género *Lavandula* é conhecido desde a Antiguidade Clássica como aromática e medicinal. Estas suas características são devidas aos compostos sintetizados e acumulados em estruturas secretoras. Em Portugal, podemos encontrar várias espécies do género, entre elas, a *L. pedunculata*. Nesta espécie é possível distinguirem-se tricomas protectores e secretores. Com este trabalho pretendeu-se estudar a ontogenia dos tipos de tricomas em cotilédones e plântulas ao longo do seu desenvolvimento, sob diferentes condições de fotoperíodo, 16 horas de luz/ 8 horas de escuro ou 12 horas de luz/ 12 horas de escuro, respectivamente. Ao longo do desenvolvimento das plântulas foram colhidas amostras para observação em microscopia electrónica de varrimento.

Os resultados mostraram que nas condições em estudo a taxa de germinação desta espécie é baixa. Também este resultado mostrou que existem variações no desenvolvimento das plântulas submetidas a diferentes fotoperíodos, quer em relação ao número de folhas, à sua dimensão, densidade e tipo de tricomas presentes.

Abstract

The genus *Lavandula* is known since classic antiquity as aromatic and medicinal. These characteristics are due to compounds synthesized and accumulated in secretory structures. In Portugal, we find several species of the genus including the *L. pedunculata* species. In this species, it is possible to distinguish between protective and secretory trichomes. With this work we pretend study the ontogeny of the types of trichomes and plantlets along their development, under different photoperiod conditions, 16 hours light/8 hours dark and 12 hours light/12 hours dark, respectively. Cotyledons and leaves from plantlets along different development were collected and used for scanning electron microscopy.

The results demonstrated that in the conditions used the rate of germination of this species was low. Also this study showed that there are variations in plant development under different photoperiod in relation to the number of leaves, dimensions, density and types of the trichomes present.

1. Introdução

A família das lavandulas, *Labiatae* Adans. (ou *Lamiaceae* Martinov) (Harley *et al.*, 2004), contém muitas espécies de plantas aromáticas e medicinais usadas pelo povo desde há muitos anos, em costumes adquiridos de geração em geração. A sua designação vulgar, labiadas deriva das flores desta família botânica apresentarem pétalas morfológicamente semelhantes a pequenos “lábios”. Trata-se de uma família com uma distribuição por várias zonas do globo, ocorrendo principalmente na região mediterrânica (Kadereit *et al.*, 2004).

Esta família compreende vários géneros, de entre os quais o género *Lavandula* L. (Morales, 2000) que é composto por 39 espécies com uma distribuição geográfica ampla, desde a Macaronésia, por toda a região mediterrânica e, de forma mais dispersa, pelo Norte de África, península Arábica e Sul da Ásia até à Índia (Morales, 2010). A denominação *Lavandula* vem do latim “lavare”, devido a estas plantas de aroma agradável serem usadas, na antiguidade, nos banhos dos romanos (Evans, 2009). Devido a estas características, as lavandulas são desde sempre usadas como ornamentais, aromatizantes, condimentares e medicinais (Morales, 2010), sendo usadas para situações de flatulência, cólicas e enxaqueca nervosa (Evans, 2009). As suas características aromáticas e medicinais são devidas aos óleos essenciais, entre outros, produzidos por estas plantas como metabolitos secundários. Pensa-se que estes metabolitos não são necessários ao crescimento e desenvolvimento das plantas mas são produzidos devido à função ecológica de comunicação e defesa em resposta a condições de stress, a ataques de herbívoros e para atracção de polinizadores (Trapp e Croteau, 2001).

As espécies deste género existentes em Portugal são denominadas por alfazema ou rosmaninho (denominação mais popular). A *Lavandula pedunculata* (Miller) Cavanille (Morales, 2010) é uma dessas espécies e pode ser encontrada nas regiões do Minho e Trás-os-Montes (Alto Douro), Douro Litoral, Beira Alta e Beira Baixa, Beira Litoral, Estremadura, Alto e Baixo Alentejo e Algarve (Morales, 2010).

Nesta espécie, é possível distinguir-se dois tipos de tricomas: tricomas não secretores ou não glandulares e tricomas secretores ou glandulares. Ambos são estruturas epidérmicas, no entanto, os tricomas não glandulares têm funções associadas à protecção da planta, sendo por isso denominados de tricomas protectores ou tectores. Estes podem ser uni- ou pluricelulares, unisseriados e/ou estrelados, com um número variável de braços (Feijão, 2011).

Nos tricomas secretores podem-se encontrar tricomas peltados e tricomas capitados, sendo que ambos apresentam uma cabeça secretora, um pescoço ou pedúnculo e uma base ou pé (Moreira *et al.*, 2010). Segundo estes autores, nos tricomas peltados a célula da cabeça divide-se sucessivamente de modo radial originando 4 até 12 células (raramente

18), ficando todas cobertas por uma cutícula comum. Os óleos essenciais acumulam-se então no espaço sub-cuticular (entre a cutícula e a parede celular). Os tricomas capitados são mais diversificados e por isso Werker *et al* (1985) consideraram diversos tipos, enumerados em seguida: o capitado tipo I apresenta uma célula basal, uma a duas células pedunculares e uma cabeça com uma ou duas células; o tipo II é normalmente digitiforme e apresenta uma célula basal cônica, um pedúnculo com uma ou duas células e uma cabeça alongada ou redonda; por fim, o capitado tipo III pode apresentar um pedúnculo com duas a cinco células e uma cabeça circular, que pode colapsar, tomando a forma de uma taça. Nestes tricomas os óleos essenciais podem ser expelidos para o exterior através de poros na cutícula.

Feijão (2011) refere ainda a presença de outro tipo de tricomas nesta espécie: tricomas que combinam características dos tricomas tectores estrelados e dos tricomas capitados do tipo II, pelo que se denominam tricomas mistos. Estes novos tricomas podem apresentar um pedúnculo pluricelular que suporta dois a três braços, onde apenas um tem uma cabeça secretora – tricoma misto tipo I. Ou podem apresentar um pedúnculo pluricelular que suporta dois braços, ambos com cabeça secretora – tricoma misto tipo II.

O desenvolvimento das plantas, no geral, e dos tricomas em particular, é influenciado pelo fotoperíodo e pelas condições hídricas existentes. Por exemplo, em *Madia sativa* (Asteraceae), em plantas expostas a diferentes regimes hídricos e danos mecânicos há indução da formação de diferentes tipos de tricomas, sendo os tricomas glandulares induzidos no último caso (Gonzalés *et al.*, 2008). Este trabalho tem como objectivo estudar o desenvolvimento de plântulas de *L. pedunculata* e a ontogenia dos seus tricomas, glandulares e não glandulares sob diferentes condições de fotoperíodo.

2. Materiais e métodos

2.1 Material vegetal

Foram realizadas colheitas de sementes em plantas de *L. pedunculata* na Mata Nacional de Escaroupim (Salvaterra-de-Magos), nos meses de Maio, Julho e Setembro de 2011, bem como de plantas semeadas em vaso no Parque Botânico da Tapada da Ajuda, ISA, UTL, Lisboa. Vouchers foram depositados e identificados no Herbário do ISA (LISI, 164/2011).

Foram realizados ensaios de germinação para obtenção de plantas necessárias para posteriores estudos.

2.2 Métodos

2.2.1 Germinação das sementes

Germinaram-se cerca de 249 sementes em vasos com substrato universal autoclavado num fitoclima (Rumed) com luz e temperatura controlada, 16 horas de luz a 25°C e 8h de escuro a 22°C, com rega aproximadamente de três vezes por semana.

2.2.2 Condições de crescimento das plantas

Cerca de oito dias após a germinação das sementes, as plântulas ainda na fase de cotilédones foram divididas em dois grupos, com fotoperíodo distinto (Quadro 1).

Quadro 1- Características dos diferentes fotoperíodos aplicados ao material vegetal

Fotoperíodo	16h luz (25°C)/ 8h escuro (22°C) Grupo de controlo Condições de primavera	12 luz (25°C)/ 12h escuro (22°C)
Tempo em stress	-	10, 23 e 33 dias
Nº plântulas	46	14, 6 e 3
Rega	3 em 3 dias	

2.2.3 Microscopia Electrónica de Varrimento (MEV)

O material vegetal usado em MEV foi cotilédone, 1ª, 2ª, 3ª, 4ª e 5ª folhas no caso do controlo e cotilédone, 1ª e 2ª folhas no caso do fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro (10 dias), 2 exemplares aleatórios de cada um. Este material foi fixado numa solução de glutaraldeído a 3% durante 3 horas a 4°C, sendo posteriormente lavado em tampão fosfato de sódio 0,1 M (ph 7) durante 24 horas a 4°C. Em seguida, o material sofreu 3

lavagens em água destilada com a duração de 10 minutos cada. Após esta fixação, o material foi desidratado em concentrações ascendentes de etanol (30, 50, 70 e 100%) com duração de 30 minutos cada. Posto isto, o material sofreu um processo de secagem pelo método do ponto crítico do CO₂, efectuada num aparelho Critical Point Polaron BioRad E3500, sendo depois montado em suportes metálicos previamente cobertos com fita adesiva de dupla face. Seguiu-se um processo de metalização por irradiação com ouro, num metalizador Jeol JFC-1200. As observações realizaram-se num aparelho Jeol JSM-5220 LV (a 15 KV), com aquisição de imagem.

2.2.4 Análise de imagens

A identificação de tricomas foi feita em imagens obtidas em MEV e as medições e densidades foram realizadas com o recurso ao software “Image J 1.46r”, de aquisição livre.

Os dados apresentados nas dimensões dos tricomas consistem na média das medições realizadas às extremidades secretoras dos tricomas do mesmo tipo, presentes em determinada folha. Assim, para o fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro (controlo), foram medidos 5 tricomas peltados, 10 capitados tipo I e 2 capitados tipo II. No caso do fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, foram medidos 7 tricomas capitados tipo I e apenas um tricoma peltado, que era único.

Quanto às densidades, foram consideradas 5 imagens de MEV de cada nível, com ampliação de 350x, tendo sido contado o número de vezes que aparece cada tipo de tricoma. Feito isto, foi feita uma relação do tipo de tricoma mais frequente ao mais raro.

3. Resultados

3.1 Germinação

Os ensaios de germinação decorreram durante uma semana e ao fim desse tempo foi observada uma taxa de germinação média total de 28%. Os cotilédones nesta fase apresentavam forma de meia-lua (Est. 1A)

Para o ensaio do fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, as plântulas em fase de cotilédones foram transferidas para um fitoclima com o fotoperíodo pretendido. Passados 10 dias de stress luminoso, as plântulas apresentaram-se estioladas e os cotilédones outrora em forma de meia-lua, apresentaram uma forma mais circular, chegando a medir 0.5 cm cada (Est. 1B).



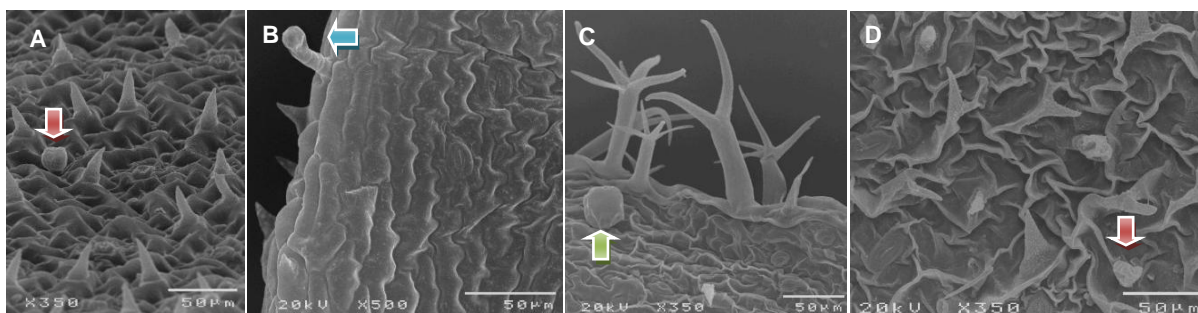
Estampa 1 - Cotilédones de plântulas de *L. pedunculata* que foram sujeitos a diferentes fotoperíodos:

A – Plântula nas condições de controlo; **B** – Plântula com fotoperíodo de 12h luz/ 12h escuro.

3.2 Tipos de tricomas presentes nos cotilédones

Nas plântulas de *L. pedunculata* desenvolvidas num fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro (controlo), os cotilédones apresentaram vários tipos de tricomas: tricomas capitados tipo I (Est. 2A), capitados tipo II (Est. 2B), peltados (Est. 2C) e tricomas tectores unicelulares (Est. 2A, 2B e 2C) e estrelados (Est. 2C), sendo os tricomas tectores unicelulares os mais abundantes, especialmente nas epidermes abaxiais. Assim sendo, não foram observados nesta primeira fase tricomas capitados tipo III nem tricomas mistos.

Nos cotilédones das plântulas desenvolvidas no fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, foram identificados apenas tricomas peltados, capitados tipo I (Est. 2D) e muitos tricomas tectores unicelulares (Est. 2D).



Estampa 2 – Microfotografias de MEV dos tricomas existentes nos cotilédones de *L. pedunculata*: **A** - Cotilédone de uma planta com 5 dias, fotoperíodo 16 horas luz/8 horas escuro, epiderme adaxial, tricoma capitado tipo I (seta vermelha) e tricomas tectores unicelulares; **B** - Cotilédone de uma planta com 5 dias, fotoperíodo 16 horas luz/8 horas escuro, epiderme adaxial, tricoma capitado tipo II (seta azul) e tricomas tectores unicelulares; **C** - Cotilédone de uma planta com 2 semanas, fotoperíodo 16 horas luz/8 horas escuro, epiderme abaxial, tricoma peltado (seta verde), tectores unicelulares e estrelados; **D** – Cotilédone de uma planta com 10 dias, fotoperíodo 12 horas luz/12 horas escuro, epiderme abaxial, tricomas capitados tipo II e tectores unicelulares.

3.3. Desenvolvimento das plantas

3.3.1. Controle: Fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro

Ao longo do desenvolvimento das plântulas, as folhas apresentaram-se de forma alongada mas o seu aparecimento foi irregular, pois não apareceram com um intervalo de tempo certo, uma vez que a 1ª folha apareceu 5 semanas após o aparecimento dos cotilédones mas o aparecimento da 5ª folha, por exemplo, já variou entre 10 a 15 semanas. Por sua vez, a presença de tricomas foi variável, como indicado no quadro 2 (Est. 3).

Quadro 2 - Aparecimento de folhas, tipos e densidades dos tricomas presentes nas condições de controle
(Legenda: - Raros, +/- Baixa densidade, + Média densidade, ++ Elevada densidade)

Nível da folha	Aparecimento da folha	Tricomas	Densidade dos tricomas
1ª	5 semanas após o aparecimento dos cotilédones	Tectores unicelulares Tectores estrelados Capitados tipo I Peltados	+ ++ +/- +/-
2ª	5 a 7 semanas após o aparecimento dos cotilédones	Tectores unicelulares Tectores estrelados Capitados tipo I Capitados tipo II Peltados	++ ++ ++ +/- +/-
3ª	8 semanas após o aparecimento dos cotilédones	Tectores estrelados Capitados tipo I Capitados tipo II Peltados	++ ++ - +/-
4ª	10 a 15 semanas após o aparecimento dos cotilédones	Tectores estrelados Capitados tipo I Capitados tipo II Peltados Mistos tipo I	++ + + +/- -
5ª	10 a 15 semanas após o aparecimento dos cotilédones	Tectores estrelados Capitado tipo I Capitado tipo II Peltados Mistos tipo I	+/- + ++ ++ +/-

Os tricomas apresentaram-se, em geral, em maior número no ápice das folhas, na epiderme abaxial e junto à nervura principal (Est. 3D), não havendo diferenças significativas nos tipos de tricomas existentes em ambas as epidermes. No entanto, na 4ª folha foi observada uma maior densidade de tricomas peltados e tricomas mistos de tipo I (Est. 3I) na epiderme adaxial, comparativamente com a abaxial. Os tricomas mistos de tipo I observaram-se pela primeira vez na 4ª folha e continuaram a ser observados na 5ª folha. A presença de tricomas tectores unicelulares nesta folha foi apenas observada na epiderme adaxial.

Foi ainda observada a extremidade de um ramo de um exemplar com 19 semanas e foi encontrada uma grande densidade de tricomas, maioritariamente tectores estrelados (Est. 3K), sendo possível a distinção de alguns peltados e capitados tipo I em número equivalente. Foi ainda observável a presença de tricomas capitados de tipo II (Est. 3M), tricomas tectores unicelulares e tricomas mistos de tipo II, que até então não tinham sido observados.

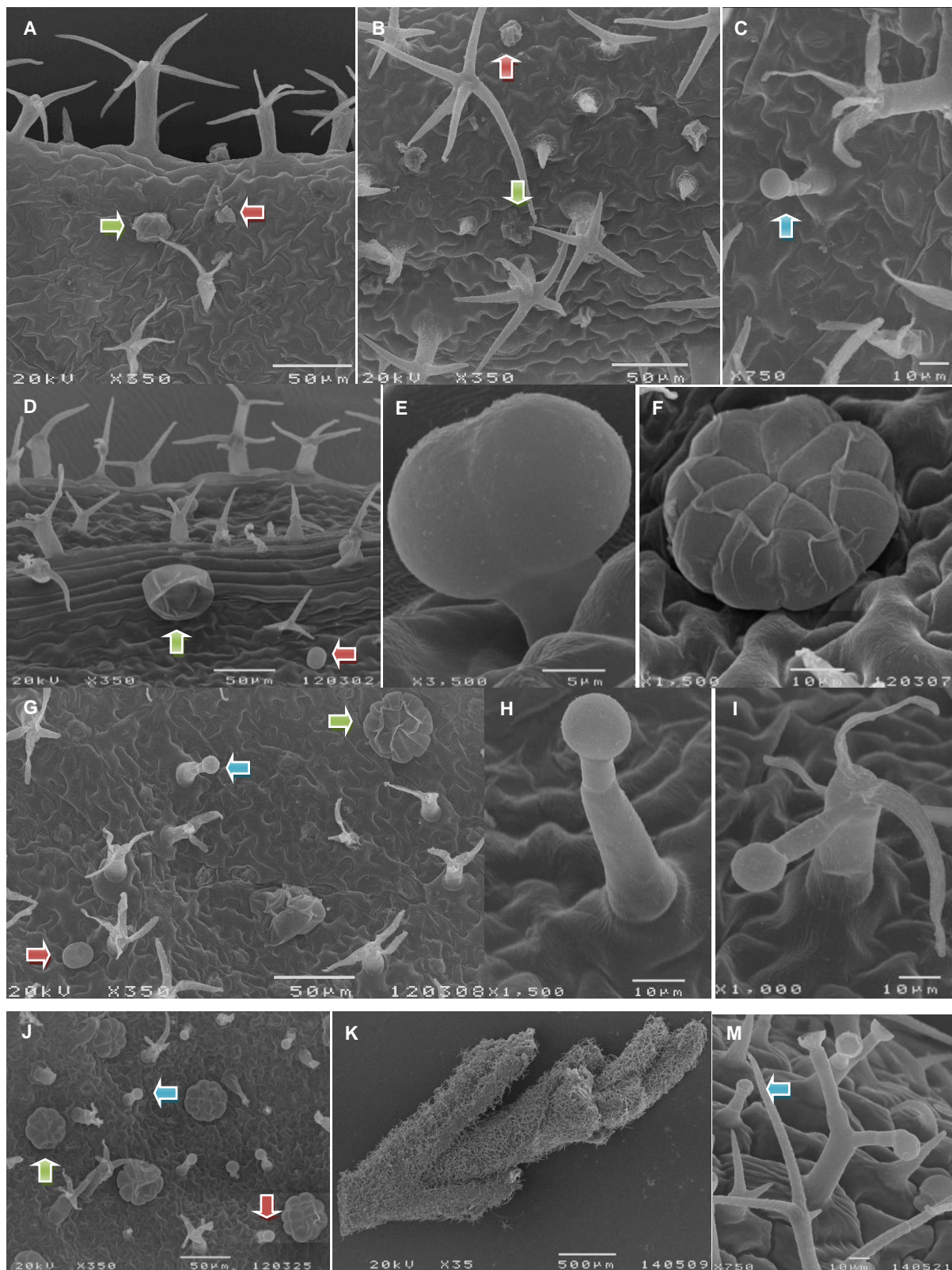
Observou-se também que todos os tricomas peltados apresentavam 8 células na cabeça (Est. 3F, 3G, 3J), não tendo sido encontrados tricomas peltados com número de células da cabeça diferente. Por sua vez, os tricomas capitados tipo I apresentavam 2 células na cabeça secretora (Est. 3E)

As dimensões dos tricomas presentes observadas apresentam-se no quadro 3.

Quadro 3 - Dimensões dos tricomas presentes em condições de controlo (em µm)

	1ª Folha	2ª Folha	3ª Folha	4ª Folha	5ª Folha
Capitado tipo I	16.57 x 14.3	17.82 x 15.53	19.89 x 15.35	20.21 x 15.61	14.16 x 11.45
Capitado tipo II	-	11.98 x 10.88	12.21 x 10.62	12.84 x 11.93	11.08 x 11.01
Peltado	46.77 x 37.04	46.97 x 40.29	54.12 x 46.4	50.62 x 38.9	46 x 41.62

Estampa 3 – Microfotografias de MEV dos tricomas existentes nas diferentes folhas em plantas de *L. pedunculata* sujeitas a 16 horas luz/8 horas escuro (controlo): **A** – 1ª Folha de uma planta com 7 semanas, epiderme abaxial, tricomas peltado (seta verde), capitado tipo I (seta vermelha) e tricomas tectores unicelulares e estrelados; **B** – 2ª Folha de uma planta com 7 semanas, epiderme abaxial, tricomas peltado, capitado tipo I e tectores unicelulares e estrelados; **C** – 2ª Folha de uma planta com 7 semanas, epiderme abaxial, tricoma capitado tipo II (seta azul) e tricomas tectores estrelados; **D** – 2ª Folha de uma planta com 9 semanas, epiderme adaxial, pormenor da maior densidade de tricomas junto à nervura principal; **E** – 2ª Folha de uma planta com 9 semanas, epiderme adaxial, pormenor de tricoma capitado tipo I com 2 células na cabeça secretora; **F** – 3ª Folha de uma planta com 8 semanas, epiderme adaxial, tricoma peltado com 8 células na cabeça; **G** – 3ª Folha de uma planta com 8 semanas, epiderme adaxial, tricomas peltados com 8 células na cabeça, tricomas capitados tipo I e II e tricomas estrelados; **H** – 4ª Folha de uma planta com 10 semanas, epiderme abaxial, tricoma capitado tipo II; **I** – 4ª Folha de uma planta com 10 semanas, epiderme abaxial, tricoma misto tipo I; **J** – 5ª Folha de uma planta com 10 semanas, epiderme adaxial, tricomas peltados com 8 células na cabeça, tricomas capitados tipo I e II e tricomas estrelados; **K** – Ramo de uma planta com 19 semanas, vista geral; **M** – Ramo de uma planta com 19 semanas, epiderme adaxial, tricomas capitados tipo II, tectores estrelados e mistos tipo II.



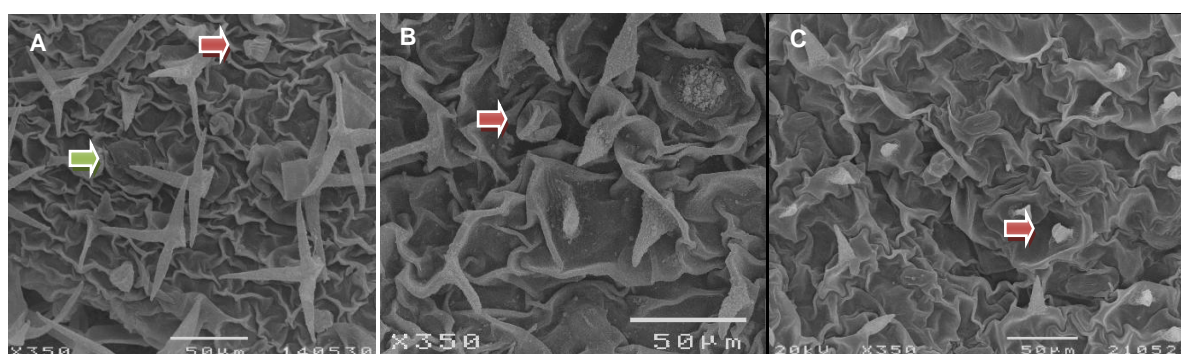
3.3.2 Fotoperíodo 12 horas de luz e 12 horas de escuro

Todas as folhas apresentaram-se alongadas e estioladas e o seu aparecimento foi regular, uma vez que as primeiras folhas apareceram 1 semana após o aparecimento dos cotilédones e as segundas folhas 2 dias depois das primeiras. Por sua vez, a presença de tricomas foi variável, como indicado no quadro 4.

Ao contrário do controlo, neste apenas foram observados tricomas tectores unicelulares e capitados tipo I. Os tricomas, tal como anteriormente, apresentaram-se em maior número no ápice das folhas, na epiderme abaxial e junto à nervura principal, não havendo diferenças significativas nos tipos de tricomas existentes em ambas as epidermes.

Quadro 4- Aparecimento de folhas, tipos e densidades dos tricomas presentes no fotoperíodo 12h luz/ 12h escuro (Legenda: - Raros, +/- Baixa densidade, + Média densidade, ++ Elevada densidade)

Nível da folha	Aparecimento da folha	Tricomas	Densidade dos tricomas
1ª	1 semana após o aparecimento dos cotilédones	Tectores unicelulares	++
		Tectores estrelados	++
		Capitados tipo I	+/-
		Peltados	-
2ª	9 dias após o aparecimento dos cotilédones	Tectores unicelulares	++
		Capitados tipo I	+/-



Estampa 4 - Microfotografias de MEV dos tricomas existentes nas diferentes folhas em plantas de *L. pedunculata* sujeitas a 12 horas luz/12 horas escuro: **A** – 1ª Folha de uma planta com 1 semana, epiderme adaxial, tricomas capitados tipo I (seta vermelha) e tectores estrelados; **B** - 1ª Folha de uma planta com 1 semana, epiderme adaxial, tricomas peltado, capitados tipo I e tectores unicelulares; **C** – 2ª Folha de uma planta com 9 dias, epiderme abaxial, tricomas tectores unicelulares e capitados tipo I.

Foi, por fim, analisada a dimensão dos tricomas secretores existentes nas folhas das plantas que se desenvolveram neste fotoperíodo (Quadro 5).

Quadro 5 - Medições dos tricomas presentes no fotoperíodo 12h luz/ 12h escuro (em µm).

	1ª Folha	2ª Folha
Capitado tipo I	17.79 x 14.81	16.93 x 12.49
Peltado	33.5 x 29.5	-

4. Discussão

Neste estudo, foram germinadas sementes de *L. pedunculata* para se observar o desenvolvimento de plântulas e a ontogenia de tricomas. Para proceder à caracterização dos tricomas foram observados cotilédones e folhas de plântulas através de microscopia electrónica de varrimento.

Observou-se que a taxa de germinação desta espécie é baixa no regime fotoperiódico usado. Segundo Chayagnat (1978), o género *Lavandula* agrupa espécies cuja germinação em laboratório é longa e difícil. De facto, em *L. luisieri* as sementes comportam-se como indiferentes ao aumento do fotoperíodo diurno, uma vez que germinam tanto com 8 como com 16 horas de luz, mas não são indiferentes à temperatura, visto que condições de Outono (temperaturas alternas de 8º/18ºC) foram as mais adequadas para a germinação desta espécie durante os diferentes tempos de conservação (Delgado *et al.*, 2010). A baixa taxa de germinação obtida poderá ser devida às condições serem pouco favoráveis para a germinação das sementes. Outra hipótese poderá ser as sementes usadas não estarem maduras.

No controlo, os cotilédones apresentaram tricomas capitados tipo I e II, tricomas peltados e tricomas tectores unicelulares e estrelados. Na 1ª folha os tricomas capitados tipo II não foram observados, voltando contudo a aparecer na 2ª folha e na 3ª. Na 4ª folha apareceram tricomas mistos do tipo I, que até então não tinham aparecido e que se mantiveram na 5ª folha. Nestas folhas não foram observados tricomas tectores unicelulares, que de resto não voltaram a ser observados, estando contudo presentes os tricomas tectores estrelados. Quanto à extremidade do ramo, esta apresentou uma grande densidade de tricomas tectores estrelados mas também unicelulares. Foram ainda observados tricomas capitados tipo I e II, peltados e, pela primeira vez, tricomas mistos tipo II.

No fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, a grande diferença é que a diversidade de tipos de tricomas é menor, comparativamente com o fotoperíodo anterior. Os cotilédones apresentaram apenas tricomas capitados tipo I, peltados e tectores unicelulares. Por sua vez, a presença de tricomas nesta 1ª folha foi idêntica à observada na 1ª folha do fotoperíodo anterior. Por fim, na 2ª folha deste fotoperíodo apenas se observaram tricomas capitados tipo I e tectores unicelulares.

Em estudos anteriores realizados em folhas adultas de material de *L. pedunculata* colhido no mesmo local, na Mata Nacional de Escaroupim, foram encontrados tricomas tectores estrelados, tricomas secretores peltados e capitados tipo I, II, II e ainda tricomas mistos I e II (Teixeira, comunic pessoal). Outro estudo recorrendo a material da mesma espécie, este colhido em Portugal na zona centro e sujeito a micropropagação, identificou tricomas com características morfológicas semelhantes às que foram descritas no nosso

material (Zuarte *et al.*, 2010). Feijão (2011) analisou a presença de tricomas em brácteas, sépalas e pétalas de *L. pedunculata* e também observou a presença de tricomas de tipos e características semelhantes aos que agora identificámos no nosso trabalho. O mesmo autor caracterizou ainda nas flores um outro tipo de tricoma peltado que se apresenta com um pedúnculo de grandes dimensões, bem como identificou no seu material tricomas capitados tipo III. Nos nossos ensaios nenhum destes tricomas foi observado, sendo que todos os outros tipos de tricomas observados foram comuns. Por outro lado, Feijão (2011) refere que os tricomas peltados nas partes florais apresentam cerca de 55 x 73 μm , os capitados tipo I bicelulares cerca de 25 x 18 μm e os tricomas capitados tipo II unicelulares cerca de 40 x 12 μm . No nosso estudo, em ambos os fotoperíodos, os tricomas apresentam menor dimensão.

Os dados obtidos são preliminares mas parecem apontar para a influência do fotoperíodo no desenvolvimento destas plântulas. Desde a fase de cotilédones foi notório o estiolamento das plantas do fotoperíodo 12 horas de luz e 12 horas de escuro, o que seria de esperar, devido ao grande número de horas de escuro imposto às plantas (Taiz & Zeiger, 2004).

O fotoperíodo parece também influenciar a ontogenia dos seus tricomas, pois no controlo aparecem diferentes tipos de tricomas, que vão-se tornando maiores nas folhas de nível superior, enquanto que em condições de stress luminoso as plântulas apresentam menor densidade e diversidade de tricomas, assim como estes apresentam menor dimensão.

5. Bibliografia

- Borges AS (2010). Morphological characterization and essential oil of *Lavandula luisieri* populations from Alentejo, Portugal.
- Chavagnat A (1978). Etude de la germination des semences de *Lavandula angustifolia* au laboratoire. Seed Science and Technology. V.6: 775-784 pp.
- Delgado, FM. Conservação e valorização de *Asphodelus bento-rainhae* P.Silva e *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas -Martínez da Beira Interior. Dissertação para a obtenção do grau de doutoramento em Engenharia Agronómica. Instituto Superior de Agronomia. 132 pp.
- Evans WC (2009). Trease and Evans Pharmacognosy. 16th edition, Saunders Elsevier, 272-273 pp.
- Feijão MDM (2011). A flora medicinal e aromática da Herdade da Ribeira Abaixo, Grândola (Estação de campo, CBA): caracterização micromorfológica e dos óleos essenciais de *Lavandula luisieri*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Biologia Celular e Biotecnologia. FCUL-UL. 58 pp.
- Harley RM, Atkins S, Budantsev AL, Cantino PD, Conn BJ, Grayer RJ, Harley MM, de Kok RPJ, Krestovskaja TV, Morales R, Paton AJ, Ryding PO (2004). "Labiatae" pages 167-275. In: Klaus Kubitzki (ed.) and Joachim W. Kadereit (vol. ed.). *The Families and Genera of Vascular Plants* vol. VII. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany.
- Kadereit JW, Kubitzki K, editors (2004). Flowering plants, dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae) – The Families and genera of vascular plants 7. Berlin, Springer.
- Morales R (2000). Diversidad en Labiadas Mediterráneas y Macaronésicas. *Portugaliae Acta Biologica* 19: 31-48.
- Morales R (2010). *Lavandula*. Em: Flora Ibérica, Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.

- Moreira I, Teixeira G, Monteiro A (2010). Anatomia das plantas. Estruturas secretoras. Série Didáctica BOTÂNICA. ISA Press. 46 – 54 pp.
- Taiz L & Zeiger E (2004). Plant Physiology. 2nd ed. Massachusetts, Sinauer Assoc. Publ.
- Trapp SC e Croteau RB (2001). Genomic organization of plant terpene synthases and molecular evolutionary implications. *Genetics* **158**: 811-832.
- Werker E, Ravid U, Putievsky E (1985). Structure of glandular hairs and identification of the main components of their secreted material in some species of the Labiatae. *Israel J. Bot.* **34**: 31-45.
- Wilfredo LG, María AN, Lorena HS, Ernesto G (2008). Induction of glandular and non-glandular trichomes by damage in leaves of *Madia sativa* under contrasting water regimes. *Acta Oecologica* 33: 128–132.
- Zuarte MR, Dinis AM, Cavaleiro C, Salgueiro LR, Canhoto JM (2010). Trichomes, essential oils and *in vitro* propagation of *Lavandula pedunculata* (Lamiaceae). *Ind. Crops Prod.* **32**: 580-587.